Aus dem Hygienischen Universitäts-Institut Frankfurt am Main
(Direktor: Professor Dr. E. Küster).

Die Verwertung der Säureagglutination zur Ausfällung und Gewinnung bestimmter Bakterien

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät der
Johann - Wolfgang - Goethe - Universität
zu Frankfurt am Main

vorgelegt von

Karlheinz Böckmann

aus Wissen a. d. Sieg

Buchdruckerei Gustav Nising, Wissen a. d. Sieg + 1936

Referent: Professor Dr. Küster
Dekan: Professor Dr. Pfuhl

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit!

Ich danke Herrn Professor Dr. K ü s t e r für die Ueberlassung des Themas und für die liebenswürdige Förderung bei der Anfertigung der Arbeit.

In der Literatur setzten sich schon seit mehreren Jahren die verschiedensten Forscher über die Natur der Eiweißkörper auseinander. Man suchte zu ergründen, worauf es beruhe, daß bei bestimmten Säure- oder Laugenkonzentrationen eine Fällung des Eiweißes erfolgte, bezw. einer bestimmten Komponenten in demselben. Auf Grund seiner Eigenschaft, sowohl mit Laugen als auch mit Säuren lösliche Salze bilden zu können, kann man das Eiweiß als amphoteren Körper auffassen. Die weitere logische Folgerung hieraus war, daß bei einer bestimmten Konzentration der Säure- bzw. Basenkomponente ein Minimum der Löslichkeit des gebildeten Salzes vorhanden sein müsse. Dieses ist tatsächlich der Fall und darüber hinaus wurde weiterhin konstatiert, daß dieses Fällungs-Optimum oder Lösungsminimum für jeden amphoteren Körper eine genau definierte und konstante Größe ist, die zu seiner Charakterisierung ebenso verwendet werden kann, wie z. B. ein Schmelzpunkt.

Kraus, Friedemann und Neisser wiesen nun nach, daß die Ausflockung der Bakterien, die man bisher bei der Serumagglutination und der Einwirkung von Chemikalien beobachtet hatte, auf der Präzipitation verschiedener in ihren Leibern enthaltener Bestandteile beruht. Bei diesen Komponenten handelt es sich um eiweißhaltige Substanzen, also amphotere Körper. Es lag die Vermutung nahe, daß es sich bei der Verschiedenheit der Bakterien auch um verschiedene Eiweißbaustoffe in ihnen handeln müsse. Wenn dieses der Fall war, mußte eine Differenzierung der Bakterien je nach ihrer Reaktion auf bestimmte Säurekonzentrationen bezw. besser H-Ionen-Konzentrationen möglich sein.

An die praktische Auswertung dieser Ideen ging zuerst Michaelis (1), der den Versuch machte, die Bakterien bei den verschiedensten H-Ionen-Konzentrationen (künftig werde ich wie auch Michaelis das folgende Zeichen für dieses Wort verwenden: [H'] zu agglutinieren. Auf die genaue Wiedergabe der Technik seiner Versuchsanordnung einzugehen, würde zu weit führen und mag an berufener Stelle nachgelesen werden. Hier sei nur soviel gesagt, daß sich der Autor für seine Untersuchungen sechs verschiedene „Säuremischungen" aus normaler Natronlauge und normaler Essigsäure herstellte, mit natürlich entsprechenden [H']. Im Folgenden das Schema:

	n.NaOH (ccm)	n Essigsäure (ccm)	dest. Wasser (ccm	[H'] (abgerundet)	Röhrchen
Lösung I	5	7,5	87,5	$1 . 10^{-5}$	1
„ II	5	10,0	85,0	$2 . 10^{-5}$	2
„ III	5	15,0	80,0	$4 . 10^{-5}$	3
„ IV	5	25,0	70,0	$8 . 10^{-5}$	4
„ V	5	45,0	50,0	$16 . 10^{-5}$	5
„ VI	5	85,0	10,0	$32 . 10^{-5}$	6

Zur genauen Titrierung der [H'] empfiehlt Michaelis (1) Phenolphtaleïn. Um der Lösung ihre Keimfreiheit zu garantieren, setzt er seinen „Säuremischungen" etwas Thymol zu. Nun zur Ausführung der Versuche:

Er gibt zu einem bestimmten Volumen einer wässrigen Bakterienaufschwemmung in verschiedenen Röhrchen die einzelnen „Säuremischungen" zu. Es zeigt sich dann, in welchem Röhrchen bezw. durch welche $[H^+]$ die beste Fällung hervorgerufen wird. Allgemein sind seine Ergebnisse folgende: Viele Bakterienarten werden durch Säuren agglutiniert und zwar derart, daß ein ganz bestimmter Grad der Ansäuerung, den man rationell durch die $[H^+]$ mißt, dem Optimum der Agglutination entspricht. Dieses Optimum ist für die einzelnen Bakterien charakteristisch und kann daher als Hilfsmittel zu ihrer Identifizierung herangezogen werden.

Michaelis (1) fand, daß sich mit Hilfe der Säureagglutination eine Differenzierung der Typhusbazillen von anderen Bakterienarten leicht ermöglichen ließe. Dieses hieße mit anderen Worten, daß gerade für diese Bazillen, deren Differenzierung mit den bisherigen Methoden nur nach mehrmaligem Umzüchten usw. zu erreichen ist, die neue Methode von unschätzbarem Wert wäre. Seine Ergebnisse erscheinen sehr eindeutig und weisen dem Typhus-Bazillus eine maximale Flockung bei einer $[H^+]$ von $4 \cdot 10^{-5}$ zu. Es werden auch in den benachbarten Röhrchen Flockungen beobachtet, die jedoch weniger stark sind. Im Gegensatz hierzu flocken die Paratyphus (A und B)-Bazillen erst bei einer $[H^+]$ von $1{,}6 \cdot 10^{-5}$ - $3{,}2 \cdot 10^{-4}$ aus. Ihr Optimum ist also nicht nur auf ein Röhrchen beschränkt wie bei Typhus, aber von diesem noch wesentlich unterschieden. Eine Differenzierung zwischen Paratyphus A und B war jedoch nicht möglich. Ebenso kann das Verfahren nicht zur Differenzierung des Bakterium enteritidis herangezogen werden, da dieses Bakterium überhaupt kein einheitliches Optimum zeigt, sondern zwischen einer $[H^+]$ von $3 \cdot 10^{-4}$ - $2{,}5 \cdot 10^{-3}$ agglutiniert wird. Colibazillen zeigten dagegen wieder eine Konstanz, wenn auch in negativem Sinn, d. h. keine der Bakterienstämme war bei irgend einer $[H^+]$ zur Ausfällung zu bringen. Choleravibrionen können mit Hilfe der Säureagglutination von choleraähnlichen Vibrionen nicht eindeutig unterschieden werden, da alle ungefähr das gleiche Optimum, das bei $1 \cdot 10^{-3}$ liegt, aufweisen. Dagegen eignete sich die Säureflockung nach Michaelis (1) gut zur Differenzierung der Cholera von anderen Vibrionen. Humane und bovine Tuberkelbazillen können nicht differenziert werden, alle zeigen ihre maximale Agglutination bei einer $[H^+]$ von $0{,}6 \cdot 10^{-3}$, dagegen macht der Froschtuberkelbazillus eine Ausnahme, indem er bei $5 \cdot 10^{-3}$ ausgeflockt wird. Als letzte Bakterien untersuchte der Autor Gonokokken und Meningokokken, die er mit $8 \cdot 10^{-5}$ angibt. Dieses sind also Werte, die ungefähr eine Mittelstellung zwischen Typhus und Paratyphus einnehmen.

Ist also die neue Methode zur Differenzierung der letztgenannten Bakterien nur bedingt brauchbar, so ist doch die eindeutige Diagnostizierung des Typhusbazillus ein großer Vorzug des Verfahrens. Vor allem ist es auch in seiner technischen Ausführung einfacher, als die Serumdiagnostik. Michaelis (1) betont, daß die Säureagglutination nur mit in destilliertem Wasser aufgeschwemmten Bakterien möglich ist und zum Beispiel Kochsalz, das ja bekanntlich für die Serumagglutination unentbehrlich ist, den Agglutinationsvorgang stark hemmt.

Es war vorauszusehen, daß diese interessanten Mitteilungen von Michaelis (1) nicht ungehört verhallten, und so setzte bald eine wahre Hochflut von Veröffentlichungen anderer Forscher ein, die die Ergebnisse

nachprüften. Bei diesen Arbeiten handelt es sich manchmal um die gegensäßlichsten Resultate, die großenteils wohl auf die Verschiedenheiten in der Versuchsanordnung zurückzuführen sind.

Aus der Fülle der Arbeiten möchte ich zuerst die Veröffentlichung von Schidorsky und Rein (2) herausgreifen. Die beiden Autoren prüften die Resultate nach, aber nicht wie Michaelis (1) an Reinkulturen, sondern sie nahmen Mischkulturen und auch Stühle von Kranken, denn es ließ sich doch annehmen, daß gerade die verdächtigen Stühle mit der Methode leicht zu diagnostizieren seien. Sie stellten fest, daß besonders die Typhus-Diagnose sowohl bei akuten Erkrankungen wie auch bei Bazillendauerausscheidern mittels der Säuremischungen (sie verwendeten auch die von Michaelis (1) angegebenen Lösungen) eine eindeutige und leicht durchführbare ist. In 6 untersuchten Fällen reagierten bis auf einen, der ein Rezidiv darstellte, alle typhösen Stühle auf der Höhe der Erkrankung positiv. Diese Resultate und die Art der Verwendung von Stuhlaufschwemmungen mußten natürlich Aufsehen erregen und wurden auch bald kritisch beleuchtet. Weitere Resultate bestätigten die Michaelis'schen Angaben. So wie Michaelis (1) bei Colitis nie eine Reaktion beobachten konnte, fielen auch hier vier Fälle bei Schidorsky und Rein (2) negativ aus. Bei Dysenterie fanden die Autoren eine Säureagglutination, es wäre also demnach möglich, Coli von Ruhrbazillen zu differenzieren, da Coli negativ reagieren. Auch diese These wird in späteren Arbeiten stark angefeindet. Es wird noch ein anfangs als Typhus imponierender Fall erwähnt, der jedoch negativ reagierte und sich später als Miliartuberkulose erwies. Alles in allem sind somit die Ergebnisse der beiden Autoren bezw. ihre Uebertragung der Laboratoriumstechnik auf die Praxis eine volle Bestätigung, weshalb die Autoren auch der Säureagglutination eine große Bedeutung voraussagen.

Wenn es nun mit Hilfe der Säureagglutination möglich war, zum Beispiel Typhus von Coli zu differenzieren, da letzterer ja, wie oben ersichtlich, inagglutinabel ist, so lag die Vermutung nahe, daß eine Isolierung der Stämme sich leicht bewerkstelligen ließ. Rost (3) stellte daher in dieser Richtung Versuche an, mußte jedoch feststellen, daß immer einige Colibazillen mit in den Säureniederschlag gerissen wurden und nachher auf den Nährböden mitwuchsen. Um den Bakterien ihre Kulturmöglichkeit zu erhalten, setzte Rost (3) im Gegensatz zu den vorgenannten Forschern zu den Stammsäuregemischen kein Thymol zu. Hierbei besteht natürlich die Gefahr, daß die Säurelösungen nicht steril sind und es ist bei ihrer Herstellung besondere Vorsicht geboten. Reinkulturen, die Rost (3) einer Prüfung unterzog, verhielten sich im allgemeinen so, wie Michaelis (1) angegeben hatte; nur in Bezug auf Paratyphus zeigten sich kleine Abweichungen. Die Paratyphusbazillen bilden überhaupt bei den später folgenden Veröffentlichungen den Gegenstand größerer Auseinandersetzungen. Rost (3) führte neben der Prüfung von Rein- und Mischkulturen auch Stuhluntersuchungen bei Kranken durch und prüfte die Brauchbarkeit der Methoden. Hierbei fand er in Uebereinstimmung zu Schidorsky und Rein (2), daß gerade für die verdächtigen Kolonien, die auf den verschiedensten Nährböden sonst weiter untersucht werden, die Säureagglutination sich glänzend bewährt hat. Handelte es sich um Typhus, so trat prompt die Fällung ein. Die Methode bezeichnete Rost (3) als „nur von Erfolg zur

Sicherstellung der Typhusdiagnose", da die anderen Erreger einen wechselnden Titer aufweisen.

Im großen und ganzen sieht man bisher immer das gleiche Bild: Typhus erscheint in Bezug auf sein Optimum als vollkommen eindeutig, während die anderen Bakterien nur bedingt mit Hilfe der Säureflockung zu differenzieren sind. Leider erhält nun aber die neue Methode durch eine Arbeit von Jaffé (4) einen Stoß, der ihr die Sicherheit zur Diagnostizierung der Typhusbazillen zu nehmen scheint. Jaffé (4) verwandte zu seinen Untersuchungen wie Michaelis (1) nur Reinkulturen und führte die Säureagglutination an 41 Coli-, 40 Typhus- und ferner 11 Paratyphus B-, 3 Paratyphus A- und 3 Mäusetyphus-Stämmen durch. Für den Typhusbazillus fand er im Gegensatz zu Michaelis (1) kein absolutes Optimum in Röhrchen 3, also bei einer HH von 4. $10^{=5}$, sondern es wechselte zwischen dem zweiten und dritten Röhrchen. In fünf Fällen erstreckte sich die Agglutination von Röhrchen 2—6 (!), obwohl nur einer von diesen Stämmen außer mit Typhusimmunserum auch mit Paratyphus B-Immunserum agglutinierte. Ein Stamm agglutinierte sogar in allen 6 (!) Röhrchen, mit Paratyphus A- und Paratyphus B-Immunserum jedoch nicht. Bei vier schwer agglutinablen Stämmen war die Reaktion vollkommen negativ. Also gerade für die Stämme, die schwer agglutinabel sind, erwies sich die Säureagglutination als unbrauchbar. Im Gegensatz hierzu hatte Michaelis (1) angegeben, daß hier die Säureagglutination, wenn auch erst nach Stunden, gerade an dem für Typhus charakteristischen Optimum eine positive Reaktion zeigte. Colibazillen verhielten sich bei Jaffé (4) auch anders, als bisher immer gefunden worden war. Vor allem erwiesen sie sich keinesfalls als einheitlich. So fiel der Versuch bei zwei Stämmen, von denen der eine mit Paratyphus A-Immunserum und der zweite außerdem mit Typhus-Immunserum agglutinierte, bei der Säureagglutination negativ aus, dagegen fand Jaffé (4) 6 Stämme, die mit Hilfe der Säureflockung positiv, mit jedem Immunserum jedoch negativ reagierten. Das bisher als Differentialdiagnostikum wichtig erscheinende negative Verhalten gegen Säure ist also hinfällig, da gerade die atypischen Vertreter der Coligruppe, deren Unterscheidung solche Schwierigkeiten bereitet, mittels der Säureagglutination nicht sicher erkannt werden konnten. Jaffé (4) erklärt in seiner Arbeit, daß er sich diese zu Michaelis (1) in Gegensatz stehenden Erscheinungen nicht erklären kann; er will sie darauf zurückführen, daß ihm nicht klar sei, wie weit Michaelis (1) den Begriff Coli gefaßt habe. Jaffé (4) sollte mit seinen Feststellungen aber nicht der einzige bleiben, wie aus den späteren Arbeiten anderer Autoren ersichtlich ist. Das Optimum für Paratyphus A und B lag nach Michaelis (1) ziemlich einheitlich zwischen Röhrchen 5 und 6. Diese Einheitlichkeit bestätigt Jaffé (4), wenn auch nicht ganz, doch lag das Optimum zwischen Röhrchen 4 und 5, bezw. auch 4, 5 und 6, und einmal sogar zwischen 3 und 6 für Paratyphus B. Paratyphus A zeigte in allen Fällen Agglutination von Röhrchen 4—6. Typhus murium war vollkommen uneinheitlich. Es sind also fast alle positiven Resultate von Michaelis (1), die zu solch großen Hoffnungen berechtigen, durch die Arbeit von Jaffé (4) widerlegt. So kann man die Methode als einfach bezeichnen, jedoch ungeeignet, wegen ihrer Unsicherheit, die bisherigen Methoden zu verdrängen.

In einer umfassenden Arbeit befaßt sich dann auf Veranlassung von Michaelis (1), Beniasch (5) mit der Säureagglutination. Er be-

hauptet, daß sich die Säureagglutination von der Serumagglutination weder makroskopisch noch mikroskopisch unterscheidet, ein Unterschied nur darin bestünde, daß im Falle der spezifischen Agglutination die Bakterien ihre Lebensfähigkeit bewahrten, während sie unter der Einwirkung von Säure erklärlicherweise absterben. Diese Behauptung von Beniasch (5) wird in mehreren Arbeiten angegriffen und erweist sich hiernach als nicht zutreffend. Der Autor kam zu der Ueberlegung, ob nicht Stämme, die gegen Säureagglutination resistent sind, auch sich gegen die spezifische Agglutination resistent verhalten. Zu diesem Zwecke führte er parallele Versuche durch, die diese Annahme bestätigten. Er schließt aus diesem Phänomen, daß in dem Prozeß der Säureagglutination die agglutinable Substanz des Bakteriums identisch sei mit derjenigen agglutinablen Substanz, die bei der spezifischen Agglutination reagiert. Es besteht also ein Parallelismus zwischen den beiden Vorgängen. Diese These wird in den späteren Arbeiten des öfteren bestätigt.

Was die Ergebnisse seiner Untersuchungen der Typhusbazillen angeht, so stimmen diese mit denen von Michaelis (1) vollkommen überein. Er fand ein Optimum zwischen 2.10^{-5} und 7.10^{-5} und glaubt nicht fehlzugehen, wenn er das Optimum mit 4.10^{-5} angibt. Die Schwankungen in den Werten führt er auf die Ungenauigkeit in der Versuchsanordnung zurück. Um sicher zu gehen, prüfte er das Ergebnis mit Hilfe der Gaskettenmeßmethode nach und konnte es bestätigen. (Ich möchte noch bemerken, daß Beniasch (5) mit Milch-, Essig- und Laevulinsäure arbeitete, jede Säure mit ihrem entsprechenden Salz (z. B. Milchsäure mit Na-Laktat). Durch genaue Dosierung der beiden Faktoren erhielt er die notwendige $[H^+]$).

Als nächstes geht der Autor an die Gruppe der Gärtner- und Paratyphus-Bazillen. Hier gibt er zunächst einige interessante Erklärungen ab, wie ungenau diese Einteilung sei. So fand er zwei Gruppen von Gärtnerbazillen, die sich durch ihre Optima gut voneinander unterscheiden lassen; für die erste Gruppe der Gärtnerbazillen fand er ein Optimum bei einer $[H^+]$ von $1{,}4.10^{-4}$, für die zweite Gruppe bei einer $[H^+]$ von $2{,}2.10^{-3}$. Beniasch (5) behauptet daran anschließend, daß man die Klassifikation der Gärtnerbazillen mit Hilfe der Säureagglutination mit eben solcher Präzision festzustellen vermöge wie mit Hilfe der spezifischen Flockung. Für die Paratyphus-A- und B-Bazillen fand er die gleichen $[H^+]$-Optima wie bei den Gärtnerbazillen. Dieses ist nach seiner Meinung beweisend für die Zugehörigkeit zur selben Gruppe der Enteritisbakterien. Innerhalb der Gruppe ist also eine Unterscheidung nicht möglich. Abgesehen von der reinlichen Unterscheidung in zwei Gruppen entspricht dieses Resultat den Angaben von Michaelis (1) und Jaffé (4), steht aber im Gegensatz zu Arbeiten von Grote (8), Poppe (9) usw. Es standen Beniasch (5) zwei alte Laboratoriumsstämme des Bazillus faecalis alcaligenes zur Verfügung, deren Agglutinationsoptimum er mit $1{,}4.10^{-4}$ bis $2{,}8.10^{-4}$ angibt. Er fügt jedoch hinzu, daß dieses Resultat revisionsbedürftig sei. Eine wichtige Feststellung machte er bei den Dysenterie- und Coli-Bazillen: die Säureagglutination fiel immer vollkommen negativ aus, so wie Michaelis (1) zuerst angegeben hat. Jaffé (4) hatte ja ein uneinheitliches Verhalten festgestellt. Worauf die negative Reaktion der Coli- und Ruhrbazillen zurückzuführen ist, kann sich Beniasch (5) nicht erklären. Er machte einen Versuch, auf

100° erhitzte Kulturen zu agglutinieren. Der Versuch fiel positiv aus, jedoch nicht intensiv und für Coli nicht charakteristisch, denn alle Bakterien der Coligruppe haben nach dem Erhitzen auf 100° das gleiche [H']-Optimum. Eine Unterscheidung der beiden Erreger untereinander ist mit der Säureagglutination demnach unmöglich.

Im Verhalten des Choleravibrio gegenüber Säure stimmt Beniasch (5) mit Michaelis (1) ungefähr überein. Das Agglutinationsoptimum liegt bei einer [H'] von $2{,}76 \cdot 10^{-4}$ bis $2{,}6 \cdot 10^{-3}$; Michaelis (1) gab als Durchschnittswert $1 \cdot 10^{-3}$ an, also praktisch ungefähr gleich. Auch Beniasch (5) sagt, daß eine Differenzierung von choleraähnlichen Vibrionen nicht möglich sei. Die Angaben über Tuberkelbazillen stimmen mit denen von Michaelis (1) überein, auch hier macht der Froschtuberkelbazillus eine Ausnahme. Die Agglutination ist jedoch sehr schwach, genau wie beim Diphterie- und Pseudo-Diphterie-Bazillus, die unmöglich voneinander zu trennen sind. Influenzabazillen und der Friedländersche Diplokokkus zeigen keine Agglutination, auch nicht bei höheren [H']. Für Milzbrand wird ein Optimum von $1 \cdot 10^{-4}$ und für den Pyocyaneus ein solches von $2{,}8 \cdot 10^{-4}$ angegeben. Bei dem letzteren ist allerdings die Agglutination sehr schwach und fehlt in einigen Stämmen vollkommen. Staphylokokken und Streptokokken verhalten sich gegen Säure ungefähr gleich. Ihr Optimum liegt zwischen $2{,}2 \cdot 10^{-3}$ und $4{,}4 \cdot 10^{-3}$, während der nur schwach agglutinable Pneumokokkus seine maximale Ausfällung zwischen $2{,}7 \cdot 10^{-4}$ und $5{,}5 \cdot 10^{-4}$ aufweist. Zwischen diesem und den beiden vorgenannten wäre also eine Differenzierung möglich. Schließlich gibt Beniasch (5) noch für die Meningokokken zwei Gruppen an, die sich, ähnlich den Gärtnerbazillen, durch ihre Optima unterscheiden. Die erste Gruppe zeigt ihr Fällungsoptimum zwischen $0{,}7 \cdot 10^{-4}$ und $1{,}33 \cdot 10^{-4}$ und die zweite zwischen $1{,}7 \cdot 10^{-5}$ und $3{,}5 \cdot 10^{-5}$. Aehnlich wie die letzte Gruppe der Meningokokken verhalten sich die Gonokokken. Sie haben ihre größte Ausflockung bei $3{,}5 \cdot 10^{-5}$, während der Mikrokokkus catharrhalis sein Optimum bei einer [H'] von $4{,}4 \cdot 10^{-3}$ besitzt.

Sieht man sich die bisherigen Ergebnisse der Arbeiten an, so muß man feststellen, daß im allgemeinen die Säureagglutination eine Bereicherung der bisherigen Untersuchungsmethoden darstellt. Hauptsächlich liegt der Vorzug der Methode in der verhältnismäßig sicheren Diagnose von Typhus- und Colibazillen (einschließlich Dysenterie). Ein zweiter wichtiger Faktor ist ferner die bedingungslos anerkannte Schnelligkeit, mit der die Bakterien nach der Säureagglutinationsmethode differenziert werden können.

Schon Beniasch (5) hatte einen Parallelismus zwischen Säure- und spezifischer Agglutination festgestellt und daraus auf die Identität der jeweils agglutinablen Substanz in dem Bakterienleib geschlossen. Unabhängig davon stellte sich Beintker (6) die gleiche Frage und versuchte, durch parallele Versuche Gewißheit zu erlangen. Hierbei zeigte es sich, daß wohl ein gewisses Parallelgehen zu erkennen ist und auch die schwer agglutinablen Stämme durch Säure gleichfalls schlecht gefällt werden, aber die Methode versagte manchmal schon, wenn die Agglutination mit Serum noch sichere Resultate lieferte. Einen durch spezifische Agglutination nicht feststellbaren Stamm durch Säure zu fällen, erschien vollkommen unmöglich. Frische Stämme zeigten sich

schlechter agglutinabel als ältere. Zeigte Typhus eine Agglutinabilität durch Säure, so lag sie bei einer [H·] von $4 . 10^{-5}$, was mit den Angaben von Michaelis (1) übereinstimmt. Für Paratyphus B findet sich das Optimum, wie von Michaelis (1) angegeben, bei $1{,}6 . 10^{-4}$ bis $3{,}2 . 10^{-4}$. Paratyphus A nimmt eine Zwischenstellung zwischen den beiden oben genannten Typhus- und Paratyphusbazillen ein und zeigt sich schlecht agglutinabel. Eine interessante Feststellung Beintkers (6) möchte ich noch erwähnen: Werden die Säuremischungen verdünnt, was an sich keine Veränderung der [H·] zur Folge haben sollte, so findet sich eine Verschiebung des Agglutinationsoptimums nach höheren [H·]. Diese Erscheinung sucht Beintker (6) in der appositionellen Dissociation des Wassers in $(H\cdot)^{+}$ und $(OH\cdot)^{-}$ zu erklären. Im Gegensatz zu Beniasch (5) findet Beintker (6), daß sich die durch Säure agglutinierten Bakterien von den spezifisch agglutinierten dadurch unterscheiden, daß erstere beim Schütteln eine homogene Trübung ergeben, die letzteren jedoch zusammengeballt bleiben. Diese Erscheinung spricht gegen die Identität der beiden Fällungen. Wir werden sehen, daß Beintker (6) mit dieser Meinung nicht allein dasteht. Bei 15 gramnegativen Stäbchen und zwei Coli-Stämmen fiel die Reaktion negativ aus. Die Arbeit stellt also im großen und ganzen eine Befürwortung der Säureagglutination dar.

Wegen ihrer zeitlichen Zugehörigkeit möchte ich an dieser Stelle auf eine Arbeit von Stepanoff-Grigorjeff (7) eingehen, von der mir nur ein kurzes Referat zur Verfügung stand. Hiernach stimmt der Autor in der negativen Reaktion des Colibazillus gegenüber der Säureagglutination mit Michaelis (1), Beniasch (5) u. a. überein. Für Typhus, dessen Optimum bekanntlich in Röhrchen 3 liegen soll, fand er eine leichte Verschiebung nach rechts, indem die maximale Flockung bei $8 . 10^{-5}$ lag. Der Typhus gleicht also mehr dem Paratyphus A nach Beintker (6). Aus einem Pestlaboratorium standen Stepanoff-Grigorjeff (7) Pestbazillen und pestartige Bazillen zur Verfügung; für Menschenpest fand er ein Optimum bei $4 . 10^{-5}$ bis $6 . 10^{-5}$. Das Optimum entspricht also dem nach Beniasch (5) für Typhus charakteristischen Lösungsminimum. Pestartige Bazillen aus der Gruppe haemorrhagischer Septicaemie zeigten ein hiervon differentes Optimum bei $32 . 10^{-5}$ bis $34 . 10^{-5}$ bezw. in einigen Fällen gar keine Reaktion.

Eine Bestätigung der von Stepanoff-Grigorjeff (7) festgestellten Rechtsverschiebung im Agglutinationsoptimum für den Typhusbazillus findet sich in einer Veröffentlichung von Grote (8). Dieser Autor gibt an, daß in 8 von 10 Typhusfällen sich eine starke Säureagglutination in den Röhrchen 3—5 zeigt; ein eindeutiges Optimum fand sich in dem charakteristischen Röhrchen 3 nur in einem Fall. Trotz dieses etwas uneinheitlichen Verhaltens glaubt Grote (8) eine Trennung des Typhus vom Paratyphus B mit hinlänglicher Eindeutigkeit durchführen zu können, da dieser sich „streng an sein Optimum in Röhrchen 6 hält". Die von Michaelis (1) aufgestellte These, daß die mit spezifischen Seren schwer agglutinablen Stämme mit Hilfe der Säureflockung ebenfalls schwer agglutinabel sind, bestätigt Grote (8). Wie erinnerlich, prüfte Beniasch (5) zwei alte Stämme des Bazillus faecalis alcaligenes und fand ein Optimum zwischen $1{,}4 . 10^{-4}$ und $2{,}8 . 10^{-4}$. Das gleiche Resultat fand Grote (8). Es besteht also

eine weitgehende Uebereinstimmung mit Paratyphus B; daher ist eine Trennung nicht möglich. Als nicht einheitlich erwies sich ein untersuchter Stamm des Bacillus enteritis Gärtner, der eine optimale Flockung in Röhrchen 5 und 6 aufwies, jedoch auch in den Röhrchen 2, 3 und 4 gleichzeitig, allerdings schwächer, agglutinierte. Paratyphus A wurde in keinem Röhrchen ausgeflockt. Dieses Ergebnis unterscheidet sich von den bisherigen. Hier war Paratyphus A wohl schwerer, aber doch eindeutig genug agglutinabel. Es werden sich im folgenden noch mehrere Autoren finden, die die Angabe bestätigen, daß Paratyphus A inagglutinabel ist. Grote (8) wendet sich scharf gegen das Verfahren von Schidorsky und Rein (2), die Säureagglutinationsversuche mit Mischkulturen bezw. mit Abschwemmungen von solchen anstellten. Seiner Meinung nach ist die Säureflockung zur Typhusdiagnose aus Mischkulturen nicht geeignet, wenn er sie auch zur Identifizierung aus Reinkulturen recht brauchbar findet.

In Uebereinstimmung mit Beintker (6) und entsprechend im Gegensatz zu Beniasch (5) sagt Poppe (9), daß sich die Säureagglutination schon makroskopisch von der spezifischen Serumagglutination unterscheidet. Bei Schütteln der ausgeflockten Bakterien ergab sich auch die homogene Trübung der Flüssigkeit im Reagenzröhrchen, die später wieder dickere Flocken absetzte. Es müsse sich demnach doch um einen verschiedenen Vorgang handeln. Zur Nachprüfung der [H⁺], die maximale Flockung der Bakterien hervorrufen, bediente auch Poppe (9) sich der Säure-Salzgemische von Michaelis (1). Wie alle vorangegangenen Autoren bezeichnet Poppe (9) das Röhrchen als Optimum, in dem sich zuerst ein Niederschlag zeigt. Andere Forscher gingen sogar so weit, daß sie dieses wegen der Vergleichsmöglichkeiten trotzdem als Optimum bezeichneten, wenn auch im Laufe der Stunden, die die Reaktion benötigt, oft ein anderes Röhrchen das als optimal bezeichnete an Intensität übertraf. Die Ergebnisse der vorangehenden Autoren werden im wesentlichen bestätigt. Paratyphus B hat sein Optimum wie bei Michaelis (1) in Röhrchen 5 und 6, zeigt jedoch in Abweichung dazu manchmal auch in 4 eine Flockung. Die Gärtner-, Psittakose- und Mäusetyphus-Bazillen zeigen im allgemeinen das gleiche Fällungsoptimum wie Paratyphus B; etwas abweichend verhalten sich die Suipestifer-Bazillen, die teils den vorgenannten gleichen, teils nur schwach durch Säure ausgeflockt werden. Kälberruhr, Paracoli usw. haben das gleiche Optimum wie alle vorher bezeichneten Bakterien, obwohl sie durch Paratyphus B-Immunserum nicht beeinflußt werden. Diese Erscheinung ist jedenfalls sehr interessant und läßt auf eine Gruppenzugehörigkeit (siehe Beniasch) schließen. Allerdings konnte Poppe (9) die Angaben von Beniasch (5) über Differenzierung der Gärtnerbazillen in zwei Untergruppen, von denen die eine bei einer niedrigeren, die andere bei einer höheren [H⁺] agglutinierte, nicht bestätigen. Auch aus Faeces gezüchtete Paratyphus-B-Stämme erwiesen sich als vollkommen einheitlich in ihrer Säureagglutinabilität. Typhus und auch Paratyphus A zeigen maximale Flockung in Röhrchen 3. Wenn das zuträfe, müßte sich eine Scheidung des Paratyphus A vom Paratyphus B durchführen lassen. Erstaunlich ist die Gleichheit in seinem säureagglutinatorischen Verhalten des Paratyphus A mit Typhus. Wie wir gesehen haben, wird dieses Ergebnis jedoch von anderen Autoren nicht bestätigt. Ueberhaupt bemerkt man ein recht interessantes

Für und Wider in den einzelnen Arbeiten und doch ist meiner Ansicht nach ein einheitlicher Zug (man muß allerdings recht großzügig sein) zu beobachten. Die Schwankungen lassen sich zu einem großen Teil aus den Fehlerquellen bei der Versuchsanordnung erklären. Beniasch (5) wies bereits darauf hin und Beintker (6) zeigte die Wichtigkeit der Verdünnung der Säuremischungen. Die Resultate, die das verschiedene Verhalten z. B. des Coli zeigten, haben allerdings andere Gründe, die ich nicht ermitteln und angeben kann. In den noch folgenden Arbeiten (hauptsächlich in der Veröffentlichung von Eisenberg [19]) wird etwas Klarheit in dem Problem der Säureagglutination geschaffen.

Heimann (10) sagte sich mit Recht, daß es nötig sei, die von Michaelis (1) angegebenen Säuremischungen über das 6. Röhrchen hinaus zu erweitern, um das Optimum z. B. des Paratyphus B nicht am Ende, sondern innerhalb der Reihe zu haben. Die mit diesen Lösungen angestellten Untersuchungen ergaben besonders für Typhus und Paratyphus B eine weitgehende Bestätigung der Angaben von Michaelis (1) und Beniasch (5). Typhus agglutinierte im 3. und 4. Röhrchen, Paratyphus B im 5. und 6. Röhrchen. Ratten- und Mäusetyphus hatten die gleiche optimale Agglutination wie Paratyphus B. Aertryck-Stämme agglutinierten im 5. Röhrchen, desgleichen ein Enteritis-Stamm, während die anderen Enteritis-Stämme von $1{,}1 \cdot 10^{-3}$ bis $2{,}2 \cdot 10^{-3}$ ihr Optimum aufwiesen. Die von Beniasch (5) angegebene Trennung der Enteritisbakterien wird also von Heimann (10) bestätigt, allerdings vermißt man das Phänomen der Teilung in 2 Gruppen bei den übrigen Paratyphus-Stämmen, denen Beniasch (5) das gleiche Verhalten nachsagt. Wie Grote (8), so findet auch Heimann (10) den Paratyphus A inagglutinabel. Der Autor hält deshalb die Säureagglutination für so wertvoll, „weil die bei der üblichen Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung, wie sie bekanntlich für die Serumagglutination unerläßlich ist, oder in Peptonwasser häufig auftretende Spontanagglutination der Paratyphus B- und Enteritis-Stämme bei Zusatz von Säureregulatoren (z. B. Essigsäure/Na-Acetat usw.) verschwindet". Von Hübner und Sobernheim wurden bei einer Fleischvergiftungsepidemie Bakterien gefunden, die durch ihre spezifischen (Agglutinin-bildenden und -bindenden) Eigenschaften eine Sonderstellung einnahmen und daher als Paratyphus-C-Bazillen bezeichnet wurden. Diesen Bakterien weist die Säureagglutination den für die Paratyphus-Enteritis-Gruppe charakteristischen Platz zu, da sie bei der gleichen [H'] ausgeflockt werden. Heimann (10) wendet sich, wie vorher Grote (8) gegen das Verfahren, das Schidorsky und Rein (2) angegeben haben, denn nach seiner Meinung kommen bei Stuhlaufschwemmungen auch Salze, Fette, Albumine und dergl. mit in die Emulsion, sodaß die zu untersuchenden Typhusbazillen in relativ geringer Menge darin vorhanden sind, und von den genannten Stoffen die Reaktion beeinflußt wird.

Einen ganz neuen Gesichtspunkt bringen Krumwiede und Pratt (11) in das Problem der Säureagglutination. Serum und Säure bewirken jede für sich eine mehr oder weniger spezifische Reaktion. Sie fragten sich, wie es wäre, wenn man beide Methoden zusammen wirken ließe? Die Autoren setzten daher einer Bakterienaufschwemmung zuerst Immunserum zu, aber natürlich in einer solchen Konzentration, daß keine Agglutination auftrat. Zu diesen so sensibilisierten Bakterien

— und zwar nahmen sie zu ihren Versuchen Typhusbazillen — setzten sie die 6 Säuremischungen nach Michaelis (1) zu. Ihre Vermutung, daß vielleicht die Bakterien veränderte Agglutinatinswerte aufweisen könnten, bestätigte sich. Sie stellten fest, daß sensibilisierter Typhus in allen 6 (!) Röhrchen positiv reagierte, was eine Erweiterung der sonst beobachteten Agglutinationszone bedeutet. Für ihre weiteren Untersuchungen benutzten sie nur die Röhrchen 1 und 2; in Röhrchen 1 war bisher nur in Ausnahmefällen eine schwache Fällung zu verzeichnen. Durch größere Versuche stellten sie eine Sensibilisierungszeit von einer Stunde als die günstigste fest. Wie sind nun die Resultate? Geht die Verdünnung des Serums über ein gewisses Maß hinaus, so unterscheidet sich die Reaktion in nichts von der gewöhnlichen Säureflockung, d. h. es findet in den beiden Röhrchen keine Agglutination statt. Am günstigsten war es, wenn man zuerst Serum und Bakterien und erst später Säure zugab. Diese Erscheinung muß auch durch das besondere Verhalten der Bausteine eines Bakteriums erklärt werden. Ferner trat die Agglutination in den meisten Fällen nach der Sensibilisierung in höheren Serumverdünnungen auf als die gewöhnliche Serumagglutination. In Verdünnungen von 1 : 1000 zeigt Normalserum in einigen Fällen die gleiche Wirkung, in anderen hemmt es selbst in größeren Verdünnungen die Säureagglutination. Zum Erzielen einer spezifischen Reaktion können daher nur hochwertige Sera verwendet werden. Die Autoren beschränken sich nur auf die Untersuchung von Typhusbazillen, sprechen jedoch gleichzeitig die Vermutung aus, daß es möglich sein könne, durch die kombinierte Serum-Säure-Agglutination Bakterien zu differenzieren, die weder mit der Serum-, noch mit der Säurefällung eindeutig differenziert werden können. Dieses Problem ist jedenfalls interessant und verdient daher, beachtet zu werden. Oft stehen die Institute vor der Aufgabe, Bakterien, die sich nur schwer differenzieren lassen, zu identifizieren und es wäre zu wünschen, daß eine wirklich brauchbare Bereicherung der Untersuchungsverfahren gefunden würde.

Ihre Erwiderung findet die Arbeit von Krumwiede und Pratt (11) in einer umfangreichen Veröffentlichung von Sgaliţer (12), die überhaupt alle bisher strittigen Fragen auf dem Gebiet der Säureagglutination behandelt. Um gleich bei der Nachprüfung und Auswertung der Resultate der vorangehenden Arbeit von Sgaliţer (12) zu beginnen, möchte ich vorweg nehmen, daß sich die Hoffnungen von Krumwiede und Pratt (11), vielleicht ein neues Hilfsmittel zur Diagnostizierung von Typhus gefunden zu haben, leider nicht erfüllen. Sgaliţer (12) fand genau wie die genannten Autoren eine Verbreiterung der Agglutinationszone (er verwandte übrigens „Salzsäuremischungen", doch davon später bei der Besprechung der Arbeit). Trotz der Verbreiterung der Agglutinationszone fand sich ein Optimum an der für Typhus charakteristischen Stelle für alle mit Immunserum vorbehandelten Stämme. Genau so, wenn auch etwas schwächer, war die Wirkung bei Vorbehandlung mit gleichen Verdünnungen Normalserum. Bei der Verwendung einer eben noch möglichen Konzentration von Normalserum (z. B. 1 : 100), zeigte sich das Auftreten zweier Agglutinationszonen. Die eine Gruppe fiel bei einer Salzsäurekonzentration von 0,01% (2. Röhrchen) die andere bei 0,36% bis 1,2%er Salzsäure (5. und 6. Röhrchen) aus. Zwischen diesen Konzentrationen fehlt jede Ausfällung. Genau so wie der Typhusstamm verhielt sich auch ein untersuchter Dysenterie- und Coli-Stamm. Das Optimum wurde

jedesmal schneller erreicht und dann auch stärker als bei der gewöhnlichen Säureflockung. Es ist also eine Summierung der ausflockenden Wirkung der Säure, des Serumeiweißes und der Agglutinine anzunehmen. Auch Immunserum zeigt zwei Agglutinationszonen, jedoch ohne so ausgesprochenen Zwischenraum wie bei Normalserum. Paratyphus B zeigt an der für Typhus charakteristischen Stelle nach Vorbehandlung mit Serum ebenfalls eine maximale Flockung (bei 0,01%). Durch das einheitliche Ausfällen der Typhus-, Paratyphus-B-, Ruhr- und Colistämme wird die Methode natürlich für diagnostische Zwecke unbrauchbar.

Sgalißer (12) unterzog auch die Resultate von Michaelis (1) einer Kontrolle. Er prüfte 38 Typhusstämme, von denen die weitaus meisten ihr Optimum in Röhrchen 3 und 4, einige auch in 2 und 5 hatten. Ein Stamm zeigte keine Agglutination. Wir finden also eine gewisse Bestätigung der bisherigen Angaben; nur ist die negative Reaktion des einen Stammes als nicht programmgemäß zu betrachten. Der Autor stellt eine weitgehende Uebereinstimmung des Milch- bezw. Essigsäuregemisches fest und hält es daher für überflüssig, diese zwei Lösungen mit ihren Resultaten gesondert aufzuzeichnen. Auch er findet zwischen der spezifischen und der Säureflockung Parallelen, doch möchte ich darauf nicht näher eingehen und auf entsprechende Notizen von Beniasch (5) u. a. hinweisen. Die Säureagglutination betrachtet Sgalißer (12) gleichwertig mit der zweiten Phase der Serumagglutination (nach Bordet). Von 18 Paratyphus B-Stämmen zeigt ein Stamm gar keine (!), die überwiegende Mehrzahl eine Agglutination in Röhrchen 5 und 6, (wie Michaelis), nur einige weichen etwas nach oben oder unten ab. Zwei Paratyphus A-Stämme agglutinierten in Röhrchen 4 und 5, 3 in Röhrchen 5 allein und einer in 5 und 6 und nehmen dadurch auch hier eine Mittelstellung zwischen Typhus und Paratyphus B ein. Inagglutinable Paratyphus-A-Bazillen, wie sie z. B. von Grote (8) beschrieben werden, fand er nicht Zwei Enteritis-Stämme flockten bei $1{,}4 \cdot 10^{-4}$ bezw. der andere von $1{,}4 \cdot 10^{-4}$ bis $5{,}5 \cdot 10^{-4}$ aus; beide jedoch sehr schwach. Auch Sgalißer (12) fand, daß nicht alle Colistämme inagglutinabel seien. Von 20 erfüllten 10 diese Bedingung nicht. Das Optimum der durch Säure ausflockbaren bewegt sich in den Lagen, in denen auch Paratyphus und Enteritis ihr Optimum besitzen. Cholera-Vibrionen sind wegen ihres uneinheitlichen Optimums nicht zu differenzieren. Beniasch (5) fand bekanntlich seine Ruhr-Stämme inagglutinabel wie auch Coli; hiergegen fand Sgalißer (12) von 32 Stämmen 5, wenn auch nur uncharakteristisch, agglutinabel. Die Ergebnisse sind somit eine Bestätigung für die von Typhus- und Paratyphusbakterien aufgestellten Optima. Da Colistämme jedoch ein derart uneinheitliches Verhalten zeigen, können wir die Säureagglutination zu diagnostischen Zwecken wie Rost (3), Schidorsky und Rein (2) nicht verwenden.

Sgalißer (12) hatte eine anorganische Säure (Salzsäure) zu seinen Versuchen benutzt. Er will dadurch die Behauptung von Beniasch (5) widerlegen, daß ausschließlich die [H·] und nicht die Art der Säure für das Optimum der Bakterien bestimmend sei. Sgalißer (12) sagt, dieses treffe nur für die organischen Säuren, nicht aber für Mineralsäuren zu. Wir werden sehen, daß sich in einer späteren Arbeit Michaelis und Adler (13) mit dieser These beschäftigen und

sie auch widerlegt haben. Es wurden wieder sechs Lösungen bereitet, die folgende Salzsäure-Konzentrationen aufwiesen:

0,0036%; 0,012%; 0,036%; 0,12%; 0,36%; 1,2%.

In diesen Lösungen zeigte Typhus sein Optimum in Röhrchen 2, Paratyphus A und B im Röhrchen 3 bezw. auch 2—3. Coli war von 9 Stämmen 8 mal agglutinabel, das Optimum schwankte zwischen der 0,012%igen und der 0,12%igen Salzsäure. Alle Dysenteriestämme wurden, wenn auch oft nur ganz minimal, ausgeflockt mit einem Optimum in Röhrchen 4 und 5. Der Autor betont, daß er die Salzsäureversuche nicht zum Zwecke einer diagnostischen Verwertung, sondern nur deshalb angestellt habe, weil er die Wirkung einer Mineralsäure hinsichtlich ihrer Ausflockung der Bakterien untersuchen wollte. Es besteht jedenfalls kein Parallelismus zwischen der Säurefällung mit Salzsäure einerseits und der Serum- sowie Milchsäureagglutination andererseits. Aus den Werten glaubt Sgaliţer (12) zu erkennen, daß bei den Mineralsäuren weit höhere $[H^{\cdot}]$ nötig sind, um die Bakterien zur Agglutination zu bringen, als bei den organischen Säuren.

Bekanntlich hatte Beniasch (5) angegeben, daß gekochte Kulturen, ganz gleich welcher Bakterien, einheitlich bei einer $[H^{\cdot}]$ von $1{,}1 \cdot 10^{-3}$ bis $2{,}2 \cdot 10^{-3}$ ausflocken. Sgaliţer (12) machte es sich nun zur Aufgabe, diese Einheitlichkeit mit Hilfe seiner Salzsäuremischung nachzuprüfen. Er verwandte vier Typhusstämme und einen Cholerastamm. Der Autor stellte fest, daß zwischen normalen Typhusbazillen und solchen, die vorher auf 50° erwärmt waren, kein nennenswerter Unterschied besteht. Anders bei den auf 80° erhitzten Stämmen: Hier zeigte sich 1. eine Verzögerung in der Ausfällung, und 2. eine Verschiebung der Agglutinationszone in das Gebiet des 3. und 4. Röhrchens (normal 2. Röhrchen). Gekochte (100°) Typhuskulturen zeigten eine Mittelstellung zwischen beiden, indem sie wohl ihr Optimum im 3 und 4. Röhrchen, aber auch eine leichte Flockung im 2. Röhrchen und schnellere Reaktion zeigten. Dieses Verhalten muß damit erklärt werden, daß sich bei 80° in den Bakterien Nucleïn abspaltet, welches beim Kochen herausgeschwemmt wird. Somit wird die Ausfällung bei einer höheren $[H^{\cdot}]$ bestätigt, allerdings nur für Typhus, denn der Cholerastamm zeigte ein gerade entgegengesetztes Verhalten, indem er bei einer Erwärmung auf 80° beschleunigt ausgefällt wurde. Ferner tritt die Flockung bei einer niedrigeren Säurekonzentration und in breiterer Zone auf. Auch diese Erscheinung muß in dem Bau der Bakterien begründet sein. Für Cholera trifft also die Beobachtung von Beniasch (5) nicht zu.

Im allgemeinen passen sich die Bakterien ihren Nährmedien an und es war daran zu denken, daß sie sich durch diesen Umbau auch verschieden gegen Säure verhalten, je nachdem, ob sie auf flüssigem oder festem, auf alkalischem, neutralem oder saurem Nährboden gewachsen sind. Sgaliţer (12) stellte fest, daß alle auf flüssigem Nährboden, ganz gleich ob diese aus Asparagin-, Pepton- oder Eiweißlösung bestehen, gewachsenen Bakterien vollkommene Uebereinstimmung untereinander aufweisen und leichter flockbar sind, als die auf festen Böden gewachsenen. Der Autor stellte fest, daß die Reaktion des Agars von Bedeutung sei. So verhielt sich Neutralagar wie der gewöhnliche Agar, indem die Ergebnisse der Säureagglutination keine wesentlichen Differenzen von der Norm aufwiesen. Anders beim sauren

Agar, jedoch auch hier nicht konstant. Drei von fünf Typhusstämmen agglutinierten in nächst höheren Röhrchen optimal, während zwei Stämme, die allerdings eine wiederholte Passage durch saure Nährböden hinter sich hatten, bei der typischen Konzentration ausflockten. Coli und Cholera verhielten sich ähnlich. Große Veränderung weisen die auf alkalischem Agar gewachsenen Typhusstämme auf, indem sie erst bei einer wesentlich höheren (30fach) Säurekonzentration Ausflockung zeigen und auch dann noch schwach und verzögert.

Zum Schluß berichtet Sgaliţzer (12) von Versuchen, die er mit Extrakten aus gut agglutinablen Typhusstämmen ausführte. Während diese Extrakte von Serum genau so gut wie die Bakterien selbst ausgeflockt werden, konnte er keine Agglutination durch Säure konstatieren, wenigstens war diese nicht sichtbar. Was sagen uns nun die Resultate und die Untersuchungsmethoden Sgaliţzers (12)? Der Säureagglutination scheint doch nur ein rein theoretisches Interesse zuzukommen, denn die Ergebnisse weisen solch starke Schwankungen auf, daß ihnen ein diagnostischer Wert abgesprochen werden muß. Auch die auf die Serum-Säure-Agglutination gesetzten Hoffnungen von Krumwiede und Pratt (11) gingen nicht in Erfüllung. Ueber die Methode Sgaliţzers (12) zu seinen Versuchen Salzsäure zu verwenden, will ich im Nachstehenden Michaelis und Adler (13) urteilen lassen:

Diese beiden Autoren setzen sich in einer Arbeit mit der Säureagglutination im allgemeinen und den Angaben Sgaliţzers (12) im besonderen auseinander. Sie wenden sich gegen die Behauptung Sgaliţzers (12), wonach die [H·] wohl für organische, aber nicht für anorganische Säuren stimmt. Nach ihren erneuten Beobachtungen ist nämlich die Agglutination doch nur von der [H·] abhängig. Sgaliţzer (12) berechnete, wie aus seiner Arbeit ersichtlich, die [H·] aus der einfachen Salzsäureverdünnung, was Michaelis und Adler (13) als irrig und falsch bezeichnen, denn auch das Wasser spaltet sich in (H·)+ und (OH·)−, die in die Berechnung mit einbezogen werden müssen. Verwendet man dagegen die Säure mit ihrem entsprechenden Alkalisalz (z. B. NaCl), so zeigt sich, daß bei genau der gleichen [H·] wie bei Essig- oder Milchsäure die Säureagglutination auftritt. Für Typhus wieder an der charakteristischen Stelle im 3. Röhrchen. Michaelis und Adler (13) halten also an der Spezifität der Typhusbazillen bei der Säureagglutination fest; über ihre Verwertbarkeit zur Differenzierung der anderen Bakterienarten ist in dieser Arbeit nichts angegeben. In einer späteren Arbeit holt Michaelis (17) dieses jedoch nach.

Mit der gleichen Frage: „Ist es gleich, welche Säure zur Ausflockung verwandt wird?" beschäftigt sich Nagel (14) in einer Inauguraldissertation. Auch er kommt, wie Sgaliţzer (12), zu dem Ergebnis, daß nicht allein die Angabe der [H·] genüge, sondern auch die Säure genannt werden müsse. Da ich mich mit der Verwertung eines Referates begnügen muß, ist es mir leider unbekannt, ob Nagel (14) die Arbeit Sgaliţzers (12) kannte oder nicht. Auch für diese Arbeit kann man die Veröffentlichung von Michaelis und Adler (13) als Erwiderung anführen. Seine Ergebnisse bestätigen die zuerst veröffentlichten Angaben von Michaelis (1) u. a., die der Säureagglutination

eine wichtige Stellung in der Differenzierung besonders der Typhus-Coli-Gruppe einräumen.

Ich habe, wie erinnerlich, eine Arbeit von Stepanoff-Grigorjeff (7) angeführt, in der erkennbar war, daß sich der Pestbazillus von dem pestähnlichen durch eine Agglutination bei verschiedener [H'] unterschied. Es war also eine Differentialdiagnose möglich. Nun untersuchte auch Markl (15) die Verwertbarkeit der Säureflockung an Reinkulturen von Pest- und pestähnlichen Bazillen und fand, daß für Pest-Bazillen ein wohlausgeprägtes Optimum bei [H'] von 8.10^{-5} — 16.10^{-5} besteht (Stepanoff-Grigorjeff (7) fand 4 mal 10^{-5} — 6.10^{-5}). Markl (15) empfiehlt, nach Aufenthalt von einer Stunde im Brutschrank das Resultat bezw. das Optimum abzulesen, da später auch die höheren [H'] positive Resultate ergeben. Die Flocken werden bei dem durch Säure agglutinierten Pestbazillus nie so groß wie die des Typhus. Markl (15) beschreibt auch Stämme, deren Agglutinationszone erweitert ist; in der angegebenen Konzentration darf die Flockung jedoch keinesfalls fehlen. Die Untersuchungen von pestähnlichen Bazillen ergab, daß sich außer Markls (15) Stämmen „pestähnliche I" und „Bazillus pseudotuberculosis rodentium" alle von Pest unterscheiden, womit die Angabe von Stepanoff-Grigorjeff (7) bestätigt wird. Die pestähnlichen zeigen gerade in den für Pest angegebenen Optima keine Agglutination. Die Folgerung hieraus ist: zeigt ein der Säureagglutination unterworfener Stamm die charakteristischen Optima nicht, so ist Pest auszuschließen, zeigt er sie, so kann die Diagnose auf Pestbazillen nur mit Wahrscheinlichkeit gestellt werden; es müssen dann die vorhin benannten pestähnlichen Bazillen ausgeschaltet werden können. Markl (15) empfiehlt die Methode zur Diagnose der Pest ihrer Einfachheit halber. Interessante Versuche, die er an Pestorganen durchführte, zeitigten dagegen keine brauchbaren Ergebnisse: die direkte Agglutination von Emulsionen von Pestorganen ist zur Sicherung der Diagnose unbrauchbar, da Pest- und Normalorgane die gleichen Optima bei der Säureflockung zeigen, welche für die Organe, aber nicht für Pest charakteristisch sind. Ein solches Ergebnis war nach Ansicht von Markl (15) jedoch vorauszusehen.

Nach dieser Abschweifung auf das weniger strittige Gebiet der Pestbazillenagglutination interessiert vor allem die Weiterentwicklung in der Diagnostik der Typhus-Coli-Gruppe. Bekanntlich fand Nagel (14) die Brauchbarkeit der Methode. Gieszczykiewicz (16) fand das Agglutinationsoptimum des Typhus gegenüber dem von Michaelis (1) und anderen angegebenen in Röhrchen 4 etwas nach rechts verschoben. Doch ist auch dieser Wert für Typhus noch typisch zu nennen, besonders auch deshalb, weil Gieszczykiewicz (16) mit dieser „Rechtsverschiebung" nicht allein dasteht. Coli ist wieder strittig: der größte Teil der Stämme ist inagglutinabel; die agglutinablen zeigen ihr Optimum teilweise an der gleichen Stelle wie Paratyphus und Enteritis bei $1{,}4.10^{-4}$ bis $2{,}8.10^{-4}$, teilweise jedoch erst bei einer [H'] von $1{,}1.10^{-3}$ bis $4{,}4.10^{-3}$. Dieses Resultat für Coli entspricht also ungefähr den von Beniasch (5) gefundenen Werten für die beiden Gruppen der Enteritisbakterien. Es handelte sich bei den untersuchten Colibazillen teils um Laboratoriumsstämme, teils um frisch aus Stuhl, Harn, Eiter oder aus der Appendix isolierte Stämme. Es liegen zwischen ihnen keine wesentlichen Unterschiede vor. Neben den

Typhus- und Coli-Bazillen interessierte sich der Autor für das Verhalten der Kapselbazillen, von denen Beniasch (5) ja auch vier Friedländer-Stämme untersucht und negativ befunden hatte. Durch ein besonderes Züchtungsverfahren, das Beham angegeben hat, können die Bakterien ihrer Kapsel beraubt und dann äußeren Einflüssen gegenüber empfindlicher gemacht werden. Dieses Verfahren wandte der Autor an und unterwarf die so gewonnenen kapselfreien Bakterien der Säureagglutination; jedoch ergab sich bis auf eine Ausnahme ein negatives Resultat. Im Gegensatz zu diesem resistenten Verhalten bei der Säureagglutination zeigten sich die gleichen Bakterien gegenüber spezifischem Serum agglutinabel. Anaërobe Bakterien sind nach Gieszczykiewicz (16) alle durch Säure leicht ausflockbar. So liegt das Optimum für Botulinus, malignes Oedem und Rauschbrand bei $2{,}8 \cdot 10^{-4}$, Tetanus zeigt maximale Flockung bei einer [H'] von $0{,}7 \cdot 10^{-4}$ und der Bazillus butyricus bei einer [H'] von $1{,}1 \cdot 10^{-3}$. Der Nekrose-Bazillus ist mit Säure nicht fällbar. Beniasch (5) weist bereits darauf hin, daß mit der Säureagglutination ein Absterben der Bakterien verbunden sei. Es war nun interessant festzustellen, ob dieses Absterben vor, nach oder zu gleicher Zeit mit der Agglutination vor sich gehe. Hier konnte er feststellen, daß in vielen Fällen die Bakterien schon vor der Agglutination abgestorben waren. Es ist also wohl kein Parallelismus anzunehmen. Der Autor befaßte sich auch mit der Säureagglutination sensibilisierter, also mit Serum vorbehandelter Bakterien, wie dies Sgaliţer (12) und Krumwiede und Pratt (11) schon vorher getan hatten. Die Ergebnisse seiner Serum-Säureagglutination sind folgende: Immunserum in einer Konzentration bis zu 1 : 100 bewirkt eine Agglutination, die von der neutralen Reaktion bis zu der [H'] reicht, die gewöhnlich das Optimum der Säureflockung darstellt. Normalserum hemmt die Säureflockung entweder ganz oder teilweise, in letzterem Fall verschiebt sich das Optimum zu den niedrigeren [H']. Wird das Immunserum bis 1 : 1000 verdünnt, so erweitert sich die Agglutinationszone auch nach rechts. Verdünnt man das Immunserum immer weiter, so unterscheidet sich der so vorbehandelte Typhus in nichts von dem normalen und dem mit Normalserum vorbehandelten. Zu diagnostischen Zwecken hat Gieszczykiewicz (16) diese Resultate nicht ausgenutzt.

Michaelis (17) verteidigt in einer kurzen Veröffentlichung die Verwertbarkeit der Säureagglutination speziell zur Diagnose des Typhus und bezeichnet die Säureagglutination nach der Serumagglutination als dasjenige Artmerkmal des Typhus, das am meisten Konstanz und Eindeutigkeit in sich vereinigt. Das Optimum in Röhrchen 3, allenfalls in 2 und 4, ist typisch und von Coli sehr verschieden. Im Verlauf der Arbeit gibt er zu, daß auch Coli und Ruhr ab und zu positiv reagieren, meist jedoch nicht. Das Optimum von Coli komme dann dem des Paratyphus gleich, nur einige Ausnahmen agglutinieren wie Typhus. Diese letzte Notiz setzt mich in Erstaunen, da sie doch der vorher aufgestellten Behauptung von der Verschiedenheit von Coli und Typhus widerspricht.

Interessant ist nun eine Mitteilung von Michaelis (18), die zwei Jahre später herauskam und in der er für die Diagnose von Coli-Bazillen eine Modifikation der Säureagglutination angibt. Wie schon des öfteren in meinem Referat erwähnt, agglutinieren Coli- und Ruhr-Bazillen mit Säure nur schlecht. Fügt man jedoch der Aufschwemmung

eine gleiche Menge Eiweiß, z. B. Blutserum zu, so zeigt sich je nach der Menge des zugefügten Eiweißes eine Agglutination bei höherer oder niederer [H+], jedoch immer innerhalb der 6 „Säuremischungen". In dieser Art verhält sich seltsamerweise nur Coli, während die Ruhrbazillen trotzdem in jedem Fall negativ ansprechen. Vielleicht handelt es sich hier um eine bestimmte Gruppenreaktion, die sich differentialdiagnostisch auswerten ließe.

Den Grund für die Uneinheitlichkeit auf dem Gebiet der Säureagglutination sucht Eisenberg (19) in einer Arbeit darin, daß von den einzelnen Autoren zu wenig Untersuchungsmaterial verwendet wurde. Ferner beanstandet er, daß jeder Stamm meistens nur einmal zur Untersuchung kam und dieses vielleicht zufällige Ergebnis angegeben wurde. Eisenberg (19) hat einige Stämme im ganzen 6 mal geprüft und konnte dabei feststellen, daß die einzelnen Resultate fast nie ganz übereinstimmen. Von 163 Stämmen des Typhus-Bazillus entsprachen nur 138 dem von Michaelis (1) und anderen Autoren festgelegten Optimum in Röhrchen 3, ab und zu auch im zweiten und vierten Röhrchen. Die restlichen Stämme zeigten ein höheres Optimum oder ein solches an der Stelle des Paratyphus B. 4 Stämme waren inagglutinabel. Nun zeigte sich, daß dieses Ergebnis nur stimmte, wenn man die Säuremischungen nach Michaelis (1) verwendete; nimmt man aber noch die Röhrchen 7—10 dazu, so kann man unter den 138 „regulären" Stämmen zwei Gruppen unterscheiden: die Mehrzahl zeigt in Röhrchen 2—4 weiterhin ihr Optimum, die anderen jedoch zeigen außer diesem tiefen Optimum noch ein hohes im Bereich von Röhrchen 6—10. Der Typhus ist also nach Eisenberg (19) nicht, wie von Michaelis (17) immer wieder betont, einheitlich und die Methode wegen der großen Variabilität nicht brauchbar. Nun wies ja Sgalitzer (12) nach, daß der Nährboden Einfluß auf das Ergebnis hat. Dieses Moment zog Eisenberg (19) in Betracht und fand, daß auf vollkommen gleichartigem Agar gewachsene Stämme doch ein verschiedenes Verhalten an den Tag legten. Eisenberg (19) untersuchte auch die Zusammenwirkung von Säure und Serum. Gewöhnlich zeigte sich eine Verschiebung des Optimums nach links, manchmal (bei succedanem Serumsuzatz) ein Verschwinden des hohen Optimums; alles in allem ein sehr mannigfaltiges Verhalten, das sich vielleicht durch das Vorhandensein eines komplizierten Kolloid-Phänomens erklären läßt. Dem Autor standen 9 Paratyphus-A-Stämme zur Verfügung, von denen 7 an der von Michaelis (1) angegebenen Stelle in Röhrchen 5 und 6 ihr Optimum zeigten und 2 inagglutinabel waren. Letzteres hatten bekanntlich auch Grote (8) und Heimann (10) beobachtet. Aehnlich verhielten sich Paratyphus-B-Stämme. Von 73 zeigten 54 das charakteristische Optimum in Röhrchen 5 und 6, einige jedoch flockten maximal erst in Röhrchen 7, wieder andere wie Typhus aus. Zwei Stämme blieben inagglutinabel. Sowohl bei Typhus wie auch bei den Paratyphen zeigte sich das zu Anfang der Arbeit erwähnte Phänomen, daß viele Stämme erst nach wiederholten Versuchen das charakteristische Verhalten zeigten. Bei 17 Fleischvergifter-Stämmen, die Eisenberg (19) zur Verfügung standen, waren die Ergebnisse der Säureagglutination ziemlich bunt: 4 waren inagglutinabel, die übrigen zeigten Optima zwischen Röhrchen 3 und 7. Bei Coli zeigte sich ein stark abweichendes Resultat, indem nur 28% aller Coli- und Paracolistämme inagglutinabel waren. Die übrigen zeigten Ausflockung beinahe

in allen Konzentrationen. Auch die Erfahrungen mit Ruhr-Stämmen stimmen mit denen von Michaelis (1) und Beniasch (5) nicht überein. Von 60 waren 47 inagglutinabel, die übrigen flockten in den Röhrchen 5—7 aus. Michaelis (18) machte die Beobachtung, daß sich durch Zusatz von Serum die Ruhrbazillen von den Coli trennen lassen. Eisenberg (19) stellte hiergegen fest, daß fast kein Coli- oder Ruhrstamm einer Kombination von Säure und Serum in stärkerer Konzentration widerstehen kann. Eisenberg (19) gibt noch eine Menge weniger systematisch untersuchter Bakterien an, die alle aufzuführen hier zu weit führen würde. So bezeichnet schließlich der Autor die von Michaelis (1) angegebenen Optima als „Mehrzahltypen", bei Coli wendet er diese Bezeichnung auch nur mit Vorsicht an. Es ist wohl doch nicht eine jeder Bakterienart eigene Eiweißkomponente vorhanden, die eine eindeutige Reaktion mit Hilfe der Säureflockung geben könnte. Wohl mag in dem einen oder anderen Bakterium ein bestimmtes Gemisch an Bausteinen überwiegen, doch wird man hieraus nur schwer auf eine bestimmte Art schließen können.

Die Mitteilungen Eisenbergs (19) wirken ganz offensichtlich entmutigend. Nur noch vereinzelt wagen sich Autoren an dieses Problem heran. So untersuchte Bach (20) eine Gruppe bisher weniger beachteter Erreger, nämlich die Proteusstämme. Die spezifischen X-Stämme fielen einheitlich in Röhrchen 2—9 aus und zwar die H-Formen. Anders die unspezifischen Proteus-Stämme (H-Formen), die vollkommen uneinheitlich agglutinierten. Die Hälfte verhielt sich wie die spezifischen H-Formen, einige wurden bereits in Röhrchen 1, andere bei höheren [H'] ausgeflockt. Nach mehrmaligem Ueberimpfen wurden allerdings noch 6 von den 7 unspezifischen Stämmen in etwa typisch. Interessant ist die Beschreibung, die Bach (20) von der verschiedenartigen Flockung in den 10 Röhrchen gibt, das Bild ist jedenfalls sehr charakteristisch. Die O-Formen, sowohl die spezifischen als die unspezifischen, zeigen gar kein einheitliches Verhalten bei der Säureagglutination, was die minimal flockende [H'] angeht. Jedoch unterscheidet sich das Flockungsbild der O-Formen von den mehr typischen der H-Kulturen. Beniasch (5) hatte bekanntlich behauptet, daß die agglutinable Substanz bei der Serum- und Säurefällung identisch sei. Hiergegen wendet sich Bach (20): die beiden Flockungsarten könnten wohl parallel gehen, die agglutinablen Substanzen brauchten deshalb aber nicht identisch zu sein. Nach den Versuchen Bachs (20) muß man sagen, daß die Säureagglutination nach Michaelis (1) sich also auch nicht zur Unterscheidung fleckfieber-spezifischer und unspezifischer Stämme der Proteusgruppe eignet und hier glatt versagt.

Es ist bei einem derartigen Stande des Problems nur zu begrüßen, daß sich Küster, Lange und Potthoff (21) noch einmal mit der Säureagglutination befassen. Die Ergebnisse, die sich auf ein größeres Material stützen, zeigen in den meisten Fällen Uebereinstimmung mit denen Eisenbergs (19), was wohl auch damit zusammenhängt, daß die Autoren wie dieser jeden Stamm durchweg mehrmals untersuchten. Für Typhus fanden sich alle Uebergänge, jedoch agglutinierte die Mehrzahl in Röhrchen 3—6 mit einem Optimum in 4 und 5. Gegen Michaelis (1), der das Optimum in Röhrchen 3 und Jaffé (4), der es gar in 2—3 fand, bemerkten sie somit eine Verschiebung nach rechts. Inagglutinable Typhusstämme, wie sie Eisenberg (19) beschreibt, konnten sie nicht feststellen. Dagegen fanden die Autoren

Paratyphus A fast stets säureagglutinations-negativ, stellte sich eine Flockung ein, so war sie nur sehr schwach in den Röhrchen 4—6. Aehnlich verhielten sich die Gärtner-Bazillen. Zeigten diese beiden Bakterienarten in der Hauptsache eine negative Reaktion, so war der Paratyphus B dagegen bis auf einige Stämme agglutinabel und zwar meistens in 5 und 6 (wie Michaelis) manchmal auch in 3—6. Paratyphus A und B sind also nicht gleich in ihrer Reaktion bei der Säureflockung, was mit den Ergebnissen von Rost (3), Jaffé (4) u. a. übereinstimmt. Trotz mehrfacher Versuche waren die Ruhr- und Pseudoruhr-Stämme negativ. Eisenberg (19) hatte hier allerdings auch agglutinable gefunden. Coli zeigte in 12 von 13 Fällen ein negatives Verhalten, obwohl von diesen 12 Stämme vorher von Küster (21) agglutinabel befunden wurden; überhaupt kann man Schwankungen bei aufeinanderfolgenden Generationen beobachten. Für die Typhus-Coli-Gruppe messen die Autoren der Säure-Agglutination auf Grund der obigen Ergebnisse nur einen geringen differentialdiagnostischen Wert zu. Die von Küster, Lange und Potthoff (21) gefundenen Werte für Proteus weichen von denen Bachs (20) ab. So waren die O-Formen der X-Stämme gänzlich negativ, während die H-Form ein Optimum in 5—6 zeigte. Bach (20) fand Agglutination in Röhrchen 2—9. Die O-Formen der Proteus „W"-Stämme agglutinierten in 3—6, auch 2—6, während die H-Formen nur in 5 und 6 ausflockten. Bach (20) fand für diese Stämme gar keine Einheitlichkeit. Cholera erwies sich auch als uneinheitlich: ein Stamm reagierte fast negativ, ein anderer mit einem Optimum in 5 und 6. Hiergegen verhielt sich Milzbrand sehr gleichmäßig, indem er in allen 6 Röhrchen gleich stark ausgeflockt wurde. Wie Sgalitzer (12) weisen auch Küster, Lange und Potthoff (21) auf den Einfluß des Nährbodens auf die Agglutinabilität hin und stellten fest, daß alle vorher gut durch Säure agglutinablen Stämme nach Züchtung auf alkalischem Nährboden ihre Agglutinabilität verlieren.

Erfreulich an der Arbeit ist, daß die in den bisherigen Untersuchungen ziemlich vernachlässigten Tuberkelbazillen einer eingehenderen Untersuchung unterzogen wurden. Küster (21) unterwarf die zu untersuchenden Bakterien einer besonderen Vorbehandlung, indem er sie im Mörser mit Aqua dest. verrieb, anschließend eine Stunde in der Kugelmühle behandelte und darauf eine Minute zentrifugierte. Leider lieferten die einzelnen Klassen der „säurefesten" so wenig unterschiedliche Ergebnisse, daß man die Hoffnung auf eine bestimmte Identifizierung dieser Erreger aufgeben mußte.

Interessant ist auch ein von den Autoren angegebenes Phänomen, nämlich die Abwaschbarkeit der Säureagglutination, die durchweg bei allen hierauf geprüften Bakterien von mehr oder weniger gutem Erfolg war. Vergleichsweise wurde auch der Einfluß der Waschung auf die spezifische Agglutination geprüft und hierbei wechselte das Ergebnis beträchtlich, denn manchmal wurde keine Abwaschbarkeit beobachtet. Eine weitere interessante Beobachtung ist die der Paragglutination, indem vorher inagglutinable Stämme nach Ueberimpfen auf Nährböden von säureagglutinationspositiven Bakterien, die vorher durch einstündiges Erwärmen auf 60° abgetötet waren, ebenfalls bei Säureeinwirkung sich positiv verhielten. Diese Paragglutination gegenüber der Säureflockung tritt früher auf als die gegenüber der spezifischen Serumagglutination. Es trifft die Erscheinung der Paragglutination also auch

für die Säureflockung zu. Ferner erwähnen die Autoren die Einwirkung des Erhitzens auf die Agglutination und stellen fest, daß Kochen vor dem Zusatz der Säuremischung auf die Reaktion hemmend, Kochen nach dem Zusatz beschleunigend wirkt. Dieses ist ein neuer Gesichtspunkt, denn die Einwirkung der Säure vor oder nach dem Kochen wurde bisher noch nicht untersucht. Wohl erwähnt Sgalitzer (12) eine Unterscheidung zwischen auf 50°, 80° und 100° erwärmten Bakterien, worüber in der vorliegenden Arbeit jedoch nichts gesagt ist. Für alle Bakterienarten wird die Mörserung als die Säureagglutination begünstigend gefunden: säure-inagglutinable Stämme werden hierdurch agglutinabel. Diese Erscheinung erklären sich die Autoren aus einer Befreiung des Endoplasmas aus dem Bakterienkörper durch die Zerreibung, es müßte also dieses Endoplasma durch Säure leicht agglutinabel sein.

Zieht man aus diesem allen den Schluß, so muß man zugeben, daß die Säureagglutination zu diagnostischen Zwecken so gut wie nicht verwendbar ist. Hierin stimmen denn auch Küster, Lange und Potthoff (21) mit Eisenberg (19) und vielen anderen überein.

Zu einem wesentlich anderen Ergebnis als Bach (20) und Küster (21) bezüglich der Identifizierungsmöglichkeiten der verschiedenen Proteus-Stämme kam in einer Arbeit Bien (22). Dieser Autor fand analog Bach (20) für die H-Formen der X-Stämme eine breite Agglutinationszone von $P_h = 2$ bis $P_h = 4$. Als wichtig bezeichnet der Autor, daß nach beendigter Agglutination die obenstehende Flüssigkeit trübe bleibt; dieses glaubt er daraus erklären zu können, daß die O-Formen, die er säure-inagglutinabel fand, in der Emulsion mit enthalten seien. In Uebereinstimmung mit Bach (20) liegt also das Optimum der H-X-Stämme bei $P_h = 3$ (5. Röhrchen). Bach (20) gab bei dieser Konzentration ebenfalls die größten Flocken an. Da die H- und O-Formen ein derart verschiedenes Verhalten gegen die Säureagglutination zeigen, ist nach Bien (22) eine Differenzierung gut möglich.

Die Arbeit von Bien (22) gestaltet das Problem der Säureagglutination speziell für die X-Stämme sehr interessant und berechtigt zu Hoffnungen, hierin ein brauchbares Bereicherungsmittel der Differenzierungsmethoden zu besitzen. Es ist daher nicht verwunderlich, daß schon bald nachher eine Arbeit von Putter und Zorn (23) zur Veröffentlichung kommt, in der die Angaben von Küster (21), Bach (20) und Bien (22) nachgeprüft werden. Die Untersuchung umfaßte drei Stämme mit je einer O- und H-Form: X2, X19 und X21. Während die beiden erstgenannten Stämme reine (besser: fast reine) O- und H-Formen erkennen ließen, war diese Erscheinung beim X21 weniger deutlich. Allgemein stellten die Autoren fest, daß die beiden Formen sich bei der Säureflockung sehr different verhalten und sich daher gut unterscheiden lassen. Die H-Formen sind bei allen Stämmen sehr einheitlich und lassen eine Agglutination vom Röhrchen 3 an aufwärts erkennen. Wie Bach (20) schon beschrieben hat, ändert sich das Bild der Flocken: In den niederen [H] zeigen sich typisch grobe Flocken bis ungefähr zum Röhrchen 6, dann werden sie etwas feinkörniger. Die O-Formen unterscheiden sich sowohl im Flockungsbild als auch in der Agglutinationsbreite von den H-Formen, indem die Flockung erst im Röhrchen 7 beginnt. Die Flocken sind stets feinkörnig. So ist das Bild nach einer Einwirkungszeit von 15 Minuten. Liest man nach 2 Stunden

ab, so erweitert sich die Flockungszone für die O-Formen, unterscheidet sich aber weiterhin durch ihre Feinkörnigkeit von der H-Form. Es liegt somit ein Unterscheidungsmerkmal der beiden Formen mit Hilfe der Säureagglutination vor. In Widerspruch zu Bien (22) sind also auch die O-Formen agglutinabel, und dabei typischer, als von Bach (20) beschrieben wurde. Der X21 zeigte immer einen Uebergang zwischen den beiden Formen, was seine ungenügende Differenziertheit beweist. Von Interesse ist auch die Frage, ob das Alter einer Kultur auf den Ausfall der Reaktion irgend einen Einfluß hat. Die Autoren stellten hier fest, daß jüngere Kulturen (8—12-stündige) im allgemeinen leichter agglutinabel sind, ja manchmal zu Spontanagglutination neigen.

Bekanntlich wurde in den Arbeiten von Sgaliţer (12), Eisenberg (19) u. a. auf die Bedeutung der Temperatur für den Ausfall der Säureagglutination hingewiesen. Hierbei sah man eine Verschiebung nach rechts und bei 80° ausgesprochenste Flockungshemmung. Aehnliche Erscheinungen waren auch bei den Proteusstämmen anzunehmen, und zwar kamen Putter und Zorn (23) zu der interessanten Feststellung, daß zunehmend höhere Temperaturen eine entsprechende Zunahme der Agglutinierbarkeit bei den O-Formen zur Folge hatten! Das gerade entgegengesetzte Bild (also analog den übrigen Bakterien) zeigten die H-Formen, indem sie eine Agglutinationsverzögerung erleben und gleichzeitig feinere Flocken zeigen. Wir sehen somit ein wesentlich verschiedenes Verhalten der beiden Proteusformen. So wie die Erwärmung wirkte auch die Art des Nährbodens nach Sgaliţer (12) verändernd auf die Agglutinationswerte. Für Proteus scheint dies jedoch nicht zuzutreffen, da die Werte gleich blieben, ob der Stamm nun auf neutralem, saurem oder basischem Nährboden gewachsen war.

Mit dieser Arbeit von Putter und Zorn (23) ist die Reihe der speziellen Untersuchungen der Proteusstämme abgeschlossen. Zusammenfassend kann man hierzu sagen, daß die Säureagglutination auf dem Gebiete der Identifizierung von Proteus-O- und H-Formen imstande ist, Gutes zu leisten und sich durch ihre verhältnismäßig große Eindeutigkeit einen wichtigen Platz in der Proteusdiagnostik zu sichern.

Wie sieht es nun inzwischen auf dem Gebiete der allgemeinen diagnostischen Verwertbarkeit der Säureagglutination aus? Hier herrscht noch die gleiche Uneinheitlichkeit wie vorher, und der Wert der Methode sinkt von Arbeit zu Arbeit mehr. So befaßt sich Neuwirth (24) in einer Dissertation, von der mir allerdings nur ein Referat zur Verfügung steht, mit der Säureflockung. Mit Hilfe der Methode ist es danach dem Autor nicht gelungen, 58 Coli-, 46 Paratyphus- und 6 Geflügeltyphus-Stämme eindeutig zu unterscheiden und zu bestimmen. 63% der Paratyphusstämme zeigten Optima bei P_h = 3,8 — 3,5, die anderen waren uneinheitlich. Coli war in 81% der Fälle agglutinabel, jedoch zeigte sich eine Agglutination in ziemlich weiten, uncharakteristischen Grenzen, genau wie auch die Stämme des Geflügeltyphus. Auch Neuwirth (24) machte die Beobachtung, daß die optimale Säureflockung ein und desselben Stammes bei einer Wiederholung des Versuchs nicht stets im gleichen Röhrchen auftrat. Es ist die Erscheinung, die Eisenberg (19) bei seinem umfangreichen Material schon festgestellt hat, ein grundlegendes Uebel der Säurefällung und somit ein Grund für die Contraindikation ihrer Verwendung. — Zum Schluß möchte ich noch eine Arbeit von Sartorius (25)

referieren, die vielleicht imstande ist, zur Aufklärung der so einfach scheinenden und doch unendlich komplizierten Erscheinung der Säureagglutination beizutragen. Immer wieder wurde die Inkonstanz der Methode betont und die Anwendung der Säureflockung leichthin abgetan. Nun sucht Sartorius (25) den Nachweis zu erbringen, daß doch eine gewisse Konstanz in der Reaktion vorliegt. Vor allem erscheint es nicht gleich, mit welchem Säuresalzgemisch man arbeitet, da die Wechselbeziehungen zwischen Säure und Salz recht mannigfaltiger Art sind. Vor allem untersuchte der Autor Coli und fand, daß Prüfungen mit einem konstanten Kochsalzgehalt eine allgemein zunehmende Breite der positiven Reaktionen ergaben. Dieses Moment findet Sartorius (25) wichtig, wenigstens für frische Stämme. Bei diesen empfiehlt er, sofort nachzuforschen, aus welchem Medium z. B. die Coli-Bakterien stammen. Denn je nach dem Verhalten des Darms liegen entweder günstige oder ungünstige Verhältnisse für die Bakterien vor. Hiermit in Zusammenhang glaubt er ein konstanteres Verhalten der älteren Stämme beobachtet zu haben; nie fand er einen vorher agglutinablen Colistamm in einer späteren Untersuchung inagglutinabel. Hingegen fand er frische, zuerst negativ reagierende Stämme, die später Agglutinationen bei weiteren Versuchen ergaben. Die Wichtigkeit des Mediums, aus dem der Colistamm gewonnen wird, ließ ihn auf die Angabe von Küster (21) achten, der bekanntlich durch Aufpfropfen von Kulturen eine Aenderung im säureagglutinatorischen Verhalten nachweisen konnte. Sartorius (25) konnte zwar diese Ergebnisse nicht bestätigen, doch können diese Verhältnisse in vitro nicht ausschlaggebend sein dafür, daß keine gegenseitige Beeinflussung stattfindet. Im Darm wird man mit den wechselseitigen Beziehungen jedenfalls rechnen müssen.

Was sagen uns nun die Ergebnisse der Arbeiten?

Auf der Ueberlegung, daß die verschiedenen Arten von Bakterien auch aus verschiedenen Eiweißkomponenten bestehen und sich diese Verschiedenheit bemerkbar machen müsse, baut sich das ganze Problem der Säureagglutination auf. Diese Ueberlegung ist zweifellos richtig. Sieht man sich die Ergebnisse der einzelnen Autoren an, so scheint es allerdings, als ob die Säureagglutination nicht die diagnostische Bedeutung habe, wie z. B. die Serumagglutination. Es kann nicht gleich sein, unter welchen Lebensbedingungen das Bakterium gewachsen ist oder anders ausgedrückt, aus welchem Milieu es stammt. So untersuchten einige der Autoren frisch aus Krankheitsherden oder Stühlen gewonnene Erreger, und verlangten von diesen, daß sie sich genau so verhalten, wie z. B. ältere Laboratoriumstämme. Die Wachstumsbedingungen für diese beiden waren eben nicht gleich; ihr Protoplasma wird sich entsprechend den veränderten äußeren Umständen angepaßt haben und dieses könnte sich in veränderten Reaktionen zeigen. Bezüglich der Würdigung dieser Momente scheint mir die Arbeit von Sartorius (25) am wichtigsten zu sein. Dieser Forscher suchte speziell für Colibazillen die widersprechenden Resultate zu klären. Es müßten daher zuerst einmal genauestens Versuche darüber angestellt werden, wie sich die auf den verschiedensten Nährböden einerseits und aus Krankheitsherden oder Stühlen andererseits frisch gewonnenen Erreger zur Säureagglutination verhalten. Denn, daß sich diese unter gleichen Voraussetzungen gewachsenen Bakterien auch in ihrer Reaktion gleich verhalten, beweist das spezifische Verhalten der Proteusstämme, wie es

Putter und Zorn (23) in ihrer Arbeit beschreiben. Diese Stämme sind längere Zeit auf Nährböden gezüchtet worden und haben dadurch wahrscheinlich derart spezifische Eigenschaften bekommen, daß auch ihr Verhalten bei der Säureflockung ein eindeutiges ist. Es wäre doch seltsam, daß das Verfahren nur von Erfolg für die Identifizierung der Proteusstämme sein sollte. Die viel umstrittenen Typhus- und Colistämme lassen sich vielleicht auch auf einen Nenner bringen, wenn man die Ursachen des atypischen Verhaltens des einen oder anderen Stammes untersucht.

Ungenügend untersucht erscheint mir die Möglichkeit der kombinierten Serum-Säureagglutination, wie sie Krumwiede und Pratt (11) angegeben haben. Die beschleunigte und in größerer Breite erkennbare Ausflockung bei diesem Verfahren muß auf einem Zusammenwirken der agglutinierenden Faktoren von Serum und Säure beruhen. Sgalißer (12) macht in seiner Arbeit die Feststellung, daß sich alle Bakterien gegenüber der Serum-Säureflockung gleich verhalten und lehnt daher ihren differentialdiagnostischen Wert ab. Man muß nun bei der Beurteilung der Ergebnisse Sgalißers (12) nach Michaelis und Adler (13) sehr vorsichtig sein, da er seine Versuche mit Verdünnungen reiner Salzsäure anstellte. Michaelis (18) glaubt mit einer Blutserum-Säureagglutination eine Fällung von Coli und negatives Verhalten von Dysenterie gefunden zu haben; er ging allerdings von der später geklärten falschen Voraussetzung aus, daß alle Coli- und Ruhrbazillen normalerweise säureinagglutinabel sind. Ich glaube sicher, daß sich im Gegensatz zu Sgalißer (12) ein verschiedenes Verhalten der einzelnen Bakterien bei geeigneten Serumkonzentrationen zeigen wird, auch wird sich ein differentes Optimum herausstellen. Sollte jedoch wirklich ein einheitliches Verhalten der Bakterien bei den einzelnen [H·] sich als richtig erweisen, wäre es dann nicht möglich, aus der Stärke der Ausflockung eine Identifizierung vorzunehmen? Es wird in den Arbeiten verschiedentlich darauf hingewiesen, daß z. B. der Typhusbazillus stärker agglutiniert wird als der Ruhrbazillus. Ferner möchte ich auf die krasse Verschiedenartigkeit der H- und O-Formen der Proteusstämme in ihrer Flockungsintensität hinweisen. Hier besteht doch eine Unterscheidungsmöglichkeit. Für die Proteusstämme erkennt man dieses Phänomen an, ob es jedoch zur allgemeinen Diagnosestellung brauchbar ist, wird von keinem Autor eingehender untersucht.

Eine andere Art von Vorbehandlung — allerdings nur der Tuberkelbazillen — wird in einer Arbeit von Küster (21) angegeben. Hiernach werden die Erreger zuerst gemörsert, eine Aufschwemmung hiervon in der Kugelmühle behandelt und zuletzt zentrifugiert. Alle auf diese Art vorbehandelten Tuberkelbazillen wurden säureagglutinabel gefunden, womit anzunehmen ist, daß das bei der Zerreibung frei werdende Endoplasma gegen Säure viel empfindlicher reagiert als das seiner Hülle nicht beraubte Bakterium. Es müßte sich aus dieser Erkenntnis das Verfahren weiter ausbauen lassen: wenn das Endoplasma feiner reagiert, so müssen auch die feineren Nuancen, die einer Differenzierung dienen können, zum Ausdruck kommen. Küster (21) unterwirft nur die säurefesten Bakterien diesem Verfahren und findet dabei, daß die unterschiedlichen Ergebnisse zwischen den säurefesten zu gering sind, um eine Differenzierung zuzulassen. Könnte man nicht auch hier die Intensität der Flockung in Betracht ziehen? Die Möglichkeit der

von Küster angegebenen Modifikation wird in der Literatur vollkommen übergangen und es wäre auf diesem Spezialgebiet daher noch Bahnbrechendes zu leisten.

Von Interesse, allerdings mehr theoretischer Art, sind die Angaben von Beniasch (5), Sgaliţer (12) u. a., wonach auf verschiedene Temperaturen erhitzte Bakterien ein verschiedenes Verhalten gegen Säure zeigen. Sgaliţer (12) gibt an, daß der Typhusbazillus durch Erwärmen auf 80° seine Agglutinabilität fast ganz einbüßt, während sich Cholera gerade umgekehrt verhält. Da das Erhitzen der Bakterien einen Umbau der in ihm enthaltenen Eiweißkörper zur Folge hat, ist das differente Verhalten gegen Wärmeeinwirkung wohl ein Beweis dafür, daß diese Einweißkörper in den Erregern verschieden zusammengesetzt sein können und sich daher verschieden gegen Säurefällung verhalten sollten. Bei der gründlichen Nachprüfung dieser Behauptung darf man sich nun nicht auf die sechs „Säuremischungen" nach Michaelis (1) beschränken, sondern muß sie nach oben hin erweitern, wie es zuerst Heimann (10) angegeben hat, um auch die evtl. höheren $[H^+]$ zu erfassen.

Michaelis und Adler (13) wandten sich gegen die Behauptung Sgaliţers (12), daß es nicht gleich sei, welche Säure man zur Reaktion benutzt. Vor allem beanstandeten sie die Verwendung von reiner, verdünnter Salzsäure. Dieser letzte Einwand stimmt, denn durch das ufügen von Wasser, wie es das Verdünnen verlangt, wird die $[H^+]$ verändert, da das Wasser sich auch in $(H^+)+$ und $(OH^-)-$ spaltet. Nicht ganz einverstanden bin ich mit der Angabe der Autoren, daß man zur Erreichung der gewünschten $[H^+]$ zur Salzsäure ihr Alkalisalz NaCl zugibt. Im Prinzip stimmt das wohl, jedoch wird bekanntlich durch Zusatz von Kochsalz der Vorgang der Säureagglutination gehemmt, was in anderen Arbeiten stets hervorgehoben worden ist. In der nur kurzen Versuchsangabe von Michaelis und Adler (13) findet dieses Moment keine Beachtung. Ein Salzsäure-Kochsalzgemisch erscheint daher zur Ausführung der Säureagglutination meiner Ansicht nicht indiziert.

Die Behauptung von Beniasch (5), daß die Serum- und die Säureagglutination auf dem gleichen Prinzip beruhe und daher makro- und mikroskopisch gleich sei, ist wohl auf einen Irrtum zurückzuführen. Andere Autoren haben dies ja auch nachgewiesen. Wie Beniasch (5) dazu kommt, die beiden Flockungsbilder als völlig gleichartig hinzustellen, ist nur so zu erklären, daß er übersah, daß durch Säure ausgeflockte Bakterien beim Schütteln eine homogene Trübung ergeben, die spezifisch agglutinierten jedoch klumpig zusammengeballt bleiben. Ob also die agglutinablen Substanzen bei beiden Fällungsarten identisch sind, erschient noch nicht erwiesen, allerdings ist ein gewisser Parallelismus unverkennbar. Sgaliţer (12) bezeichnet die Säureagglutination als gleichwertig der zweiten Phase der Serumagglutination nach Bordet.

Nicht übersehen möchte ich, die Arbeiten von Schidorsky und Rein (2) und Rost (3) zu erwähnen. Hier wurde die Möglichkeit, aus Stuhlaufschwemmungen von Kranken die Bakterien zu identifizieren, als diagnostisch verwertbar hingestellt. Wenn das wirklich der Fall war, so hätte man in der Säureagglutination eine große Hilfe für die Diagnostizierung von Bakterien. Die Autoren behaupten, daß mit dem Verfahren eine sichere Diagnose auf Typhus einerseits bezw. Coli

andererseits möglich sei. Ich glaube, daß die Methode wenig Aussicht auf Erfolg haben wird, denn in den Stuhlaufschwemmungen sind so viele aus dem Verdauungsprozeß stammende Stoffe (Albumine, Salze und dergleichen), daß diese die Reaktion empfindlich stören, wenn nicht ganz überdecken müssen. In dem zu untersuchenden Material werden die in den kranken Stühlen enthaltenen Bakterien sicher in der Minderzahl sein. Aehnlich wir Markl (15) für die erkrankten Organe, nicht aber für die Erreger der Krankheit spezifische Reaktionen fand, glaube ich auch, den Nachweis aus Stuhlaufschwemmungen nicht als bakterientypisch erbringen zu können. Trotzdem würde es sich auch hier lohnen, eingehendere Untersuchungen anzustellen.

Das Problem der Säureagglutination ist nach den obigen Angaben also keinesfalls als erschöpft aufzufassen; es läßt so viele Variationen zu, daß es möglich sein wird, durch diese und vielleicht noch hinzukommende neue Wege Licht in die scheinbare Uneinheitlichkeit zu bringen. Besonders wäre meiner Ansicht nach für etwaige noch folgende Untersuchungen die von Krumwiede und Pratt (11) angegebene Serum-Säureagglutination und vor allem die von Küster (21) vorgeschlagene Vorbehandlung der Bakterien in Mörser und Zentrifuge zu beachten, wobei man brauchbare Resultate erzielen könnte. Da die Ruhr- und Tuberkelbazillen ziemlich stiefmütterlich behandelt worden sind, wäre gerade für diese eine genaue Untersuchung von Wichtigkeit.

Zusammenfassung.

1. Die Säureagglutination in der bisher geübten Form muß auf Grund der vorliegenden Arbeiten als für die Identifizierung von Bakterien nicht hinreichend sicher und daher vorläufig nicht für verwertbar bezeichnet werden.
2. Sowohl das Serum-Säureverfahren von Krumwiede und Pratt (11) wie das Vorbehandeln im Mörser und in der Zentrifuge nach Küster (21) sollten einer genauen Untersuchung und Nachprüfung unterzogen werden.
3. Bei der Bewertung der Ergebnisse sollte man ein Bakterium nicht als chemischen Körper, sondern als Lebewesen betrachten und die jeweiligen Vorbedingungen seines Wachstums als wichtige Komponenten in Rechnung ziehen.
4. Es wird meiner Ansicht nach möglich sein, die Methode der Säureagglutination brauchbar zu gestalten, womit ein neues, wichtiges diagnostisches Hilfsmittel gefunden wäre.

Literatur-Verzeichnis.

1. **Michaelis, L.:** Die Säureagglutination der Bakterien, insbesondere der Typhusbazillen. D. Med. Wschr, 1911, S, 969,
2. **Schidorsky und Rein:** Die praktische Verwertung der Säureagglutination der Bakterien nach Michaelis. D. Med. Wschr, 1912, S. 1125.
3. **Rost:** Die Verwertung der Säureagglutination zur Diagnose von Typhus. C. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 60, S. 324.
4. **Jaffé:** Die Säureagglutination und Normalagglutination der Typhus-Coligruppe. Arch. f. Hyg. Bd. 76, 1912 S. 1.
5. **Beniasch:** Die Säureagglutination der Bakterien. Z. f. Imm. Orig. Bd. 12, 1912, S. 268.
6. **Beintker:** Ueber die Säureagglutination der Typhusbazillen. Klin. Jahrb. Bd. 26, 1912, S. 383.
7. **Stepanoff-Grigorjeff:** Zur Frage nach der Säureagglutination nach Michaelis bei der Pest des Menschen. Rusky-Wratsch 1912, Nr. 3, S. 81.
8. **Grote:** Ueber die praktische Verwertbarkeit der Säureagglutination nach Michaelis. C. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 69, 1913, S. 98.
9. **Poppe:** Die Säureagglutination der Bakterien der Paratyphusgruppe. Z. f. Imm. F. Orig. Bd. 13, 1912, S. 185.
10. **Heimann:** Die Säureagglutination innerhalb der Typhus-Paratyphusgruppe. Z. f. Imm. F. Orig. Bd. 16, 1913, S. 127.
11. **Krumwiede und Pratt:** Die Säureagglutination sensibilisierter Bakterien. Zschr. f. Imm. F. Orig. Bd, 16, 1913, S. 517.
12. **Sgaliţer:** Ueber Säureagglutination. Z. f. Hyg. u. Inf. Krank. Bd. 76, 1913. S. 209.
13. **Michaelis und Adler:** Die Säureagglutination durch Salzsäure. Z. f. Imm. F. Orig. Bd. 23, 1914, S. 327.
14. **Nagel:** Untersuchungen über Säureagglutination der Bakterien. Inaug. Diss. Lausanne 1914.
15. **Markl:** Ueber Säureagglutination von Pestbazillen. C. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 77, 1915, S. 102.
16. **Gieszczykiewiecz:** Beiträge zur Kenntnis der Säureagglutination. Zschr. f. Imm. F. Orig. Bd. 24, 1916, S. 482.
17. **Michaelis:** Die praktische Verwertbarkeit der Säureagglutination für die Erkennung der Typhusbazillen. D. med. Wschr. 1915, S. 243.
18. **Michaelis:** Ueber kombinierte Eiweiß-Säureagglutination, insbes. für Coli- und Ruhrbazillen. D. dem. Wschr. 1917, S. 1506.

19. **Eisenberg:** Ueber Säureagglutination von Bakterien und über chem. Agglutination im allgemeinen. 1. Mitteilung. C. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 83, 1919, S. 70.

20. **Bach:** Untersuchung über die Säureflockung von Proteusstämmen. C. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 84, 1920, S. 265.

21. **Küster, Lange und Potthoff:** Ueber Säureagglutination. C. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85, 1921, Beiheft.

22. **Bien:** Die Säureagglutination der Weil-Felix'schen X-Stämme. C. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88, 1922, S. 177.

23. **Putter und Zorn:** Zur Säureagglutination der X-Stämme. Zschr. f. Imm. F. Orig. Bd. 39, 1924, S. 469.

24. **Neuwirth:** Beitrag zur Säureagglutination. Med. Vet. Diss. Wien 1925.

25. **Sartorius:** Beiträge zur Säureagglutination der Colibakterien. C. f. Imm. F. Bd. 45, 1924, Orig. S 478.

Lebenslauf.

Am 13. Juli 1914 wurde ich als Sohn des Carl Böckmann zu Essen a. d. Ruhr geboren. Nach dreijährigem Besuch der Grundschule kam ich in Duisburg, wohin mein Vater versetzt wurde, Ostern 1923 auf das Steinbart-Realgymnasium, wo ich bis einschließlich Untertertia blieb. Da mein Vater nach Köln versetzt wurde, schickten mich meine Eltern auf das Städtische Realgymnasium in Köln-Deutz, das ich bis zu meinem Abitur im Jahre 1932 mit Erfolg besuchte. Hierauf ging ich zum Studium der Zahnheilkunde nach Bonn, wo ich im Mai 1934 mein zahnärztliches Physikum mit „gut" bestand. Ich blieb auch im Sommersemester 34 noch in Bonn und siedelte dann nach Frankfurt a. M. über, wo ich die letzten zwei Semester studierte. Nach einem Studium von 7 Semestern bestandt ich am 23. Oktober 1935 vor dem Prüfungsausschuß der Universität in Frankfurt a. M. mein zahnärztliches Staatsexamen mit „gut".

Frankfurt a. M., 10. Februar 1936,